



(19) Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 644 426 A1**

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 94113833.1

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: **G01N 35/10, B01L 11/00,  
G01N 33/543**

(22) Anmeldetag: **03.09.94**

(30) Priorität: **17.09.93 CH 2800/93**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**22.03.95 Patentblatt 95/12**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL  
PT**

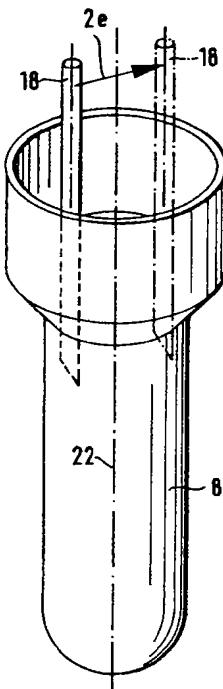
(71) Anmelder: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG  
Postfach 3255  
CH-4002 Basel (CH)**

(72) Erfinder: **Knobel, Rolf  
18 Schöng rund  
CH-6343 Rotkreuz (CH)**

(74) Vertreter: **Buntz, Gerhard et al  
Grenzacherstrasse 124  
Postfach 3255  
CH-4002 Basel (CH)**

(54) **Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln und ein Verfahren zur Durchführung der Suspension.**

(57) Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln, wobei das Analysengerät eine Transporteinrichtung enthält, die eine Positionierung der Pipettinadel (18) in einem Abstand (e) von der Mittellängssachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) ermöglicht. Die Suspension der Partikel erfolgt durch portionsweise Abgabe von Reagenzflüssigkeit an zwei unterschiedlichen Positionen im Abstand (e) von der Mittellängssachse (22) eines Reaktionsgefäßes (8), wobei eine Strömung im Reaktionsgefäß erzeugt wird, die die Suspension der Partikel ausschliesslich durch das Einspritzen von Reagenz ermöglicht, so dass auf einen nachfolgenden Schüttelvorgang verzichtet werden kann.



**Fig. 6**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln und ein Verfahren zur Durchführung der Suspension.

Die Erfindung eignet sich beispielsweise zur Suspension von magnetischen Mikropartikeln während der Reagenzzugabe in einer Bearbeitungsstation zur automatisierten Durchführung von DNA-Detektionen und Immunoassays, ist aber nicht auf diese Einsatzgebiete beschränkt.

Bei vielen Analysenverfahren wie z.B. auch bei den DNA-Detektionen und zur Durchführung von Immunoassays ist die Trennung von fester und flüssiger Phase mit anschliessendem Waschen der festen Phase notwendig.

Auf den letzten Separationsschritt im Waschverfahren folgt üblicherweise der Transport der Probe zu einer Bearbeitungsstation (beispielsweise dem Inkubator), wo die Zugabe von Reagenzlösungen erfolgt. Auf konventionelle Weise wird die Zugabe derart durchgeführt, dass die Lösungen mit Hilfe einer Pipettierspitze in die Mitte des Reaktionsgefäßes einpipettiert werden. Ein gutes Mischen von Reagenz und Festphase ist für den schnellen und effizienten Verlauf der anschliessenden chemischen Reaktion (beispielsweise während der Inkubation) nötig. Um die Suspension der festen Phase möglichst vollständig durchzuführen, kann beim Stand der Technik nicht auf einen Schüttelvorgang verzichtet werden, wobei der Reaktionsbehälter oder die gesamte Bearbeitungsstation geschüttelt werden kann. Hierzu geeignete Vorrichtungen erfordern einen zusätzlichen technischen Aufwand, welcher mit Kosten verbunden ist und zudem die Gesamtanlage räumlich vergrößert. Auch geht ein derartiger Schüttelvorgang in die Gesamtbearbeitungszeit in negativer Weise mit ein.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Analysengerät mit einer Vorrichtung zur Suspension von Partikeln bereitzustellen, das diese Nachteile nicht aufweist.

Erfindungsgemäss wird die Aufgabe gelöst durch ein Analysengerät das folgende Komponenten enthält:

eine Pipettierzvorrichtung mit einer Transporteinrichtung, die dazu dient, eine Pipettieradel in drei zueinander senkrechten Richtungen zu bewegen,

wenigstens ein Reaktionsgefäß mit einer Mittellängsachse, wobei das Reaktionsgefäß die zu suspendierenden Partikel enthält,

wenigstens eine Bearbeitungsstation, in der das Reaktionsgefäß angeordnet werden kann, und an der eine bestimmte Menge eines Reagenzes durch die Pipettieradel in das Reaktionsgefäß pipettierbar ist, wobei das Analysengerät dadurch gekennzeichnet ist, dass die Transporteinrichtung

dazu eingerichtet ist, die Pipettieradel im Reaktionsgefäß parallel zu und in einem bestimmten Abstand e von der Mittellachse des Reaktionsgefäßes zu positionieren, sodass die Position der Pipettieradel im Reagenzglas während der Pipettierung von Flüssigkeit unverändert bleibt.

Der Abstand ist der Bereich zwischen der Mittellängsachse des Reaktionsgefäßes und der Reaktionsgefäß-Wand.

Bearbeitungsstationen können im Rahmen der vorliegenden Erfindung Stationen in Inkubatoren, Wascheinrichtungen und dergleichen sein.

Partikel sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Niederschläge von schwerlöslichen Verbindungen, magnetische Micropartikel, die als Träger in Festphasenimmunoassays verwendet werden, magnetische Microbeads und dergleichen. Vorgezugsweise sind die Ablagerungen magnetische Microbeads.

Pipettieradeln sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung vorteilhafterweise derart gestaltet, dass ein Durchstossen eines Reaktionsgefäßedekkels möglich ist.

Der Erfindung liegt weiterhin die Aufgabe zugrunde ein Verfahren bereitzustellen, wobei durch Zugabe einer bestimmten Menge einer Flüssigkeit in ein Reaktionsgefäß, die zu suspendierenden Partikel ohne die oben beschriebenen Nachteile suspendiert werden können.

Die Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Suspension von Partikeln, die sich in einem Reaktionsgefäß befinden, bei dem ein vorbestimmtes Volumen einer Reagenzflüssigkeit mittels einer durch eine Transporteinrichtung bewegbaren Pipettieradel in das Reaktionsgefäß gegeben wird, und ist dadurch gekennzeichnet, dass die Pipettieradel durch die Transporteinrichtung zu einer ersten Position in einem Abstand von der Mittellängsachse des Reaktionsgefäßes gebracht wird,

mit der Pipettieradel in dieser ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäß unter Bildung eines ersten Wirbels eingespritzt wird, wobei die Position der Pipettieradel im Reagenzglas während des Einspritzens unverändert bleibt.

die Pipettieradel durch die Transporteinrichtung zu einer zweiten Position in einem Abstand e von der Mittellängsachse des Reaktionsgefäßes gebracht wird,

mit der Pipettieradel in dieser zweiten Position der restliche Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäß unter Bildung eines zweiten Wirbels eingespritzt wird, wobei der Wirbel in bezug auf die Drehrichtung des ersten Wirbels die entgegengesetzte Drehrichtung hat.

Die Partikel können in bezug auf die Mittellängsachse an diametral gegenüberliegenden Wandbereichen des Reaktionsgefäßes haften. Das ist beispielsweise dann der Fall, wenn die Partikel magnetische Mikropartikel sind und zuvor eine Trennung von fester und flüssiger Phase durch zwei sich diametral gegenüberliegende Magneten erfolgte.

Das Verfahren eignet sich nicht nur zur Suspension von Partikeln, die in bezug auf die Mittellängsachse an diametral gegenüberliegenden Wandbereichen abgelagert sind. Die Pipettieradel kann, nachdem in einer ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit in das Reaktionsgefäß pipettiert wurde durch Rotation zu einer beliebigen zweiten Position im Abstand von der Mittellängsachse des Reaktionsgefäßes verschoben werden, wo die dort abgelagerten Partikel durch Zugabe des restlichen Teilvolumens der Reagenzflüssigkeit suspendiert werden. Auch kann eine bereits im Reaktionsgefäß befindliche Lösung gut mit weiteren Lösungen vermischt werden.

Die durch die Erfindung erreichten Vorteile sind im wesentlichen darin zu sehen, dass durch die portionsweise Abgabe von Reagenzflüssigkeit an zwei unterschiedlichen Positionen eines Reaktionsgefäßes eine Strömung im Reaktionsgefäß erzeugt wird, die die Suspension der festen Phase ausschließlich durch das Einspritzen von Reagenz ermöglicht, sodass auf einen nachfolgenden Schüttelvorgang verzichtet werden kann. So kann durch die erfindungsgemäße Vorrichtung in Analysengeräten eine optimale Suspension von Partikeln während der Reagenzzugabe erfolgen allein durch die Wahl eines geeigneten Steuerprogramms der Pipettieradel, sodass eine möglichst hohe Anzahl Proben pro Zeiteinheit bearbeitet werden kann.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird im folgenden anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

Fig. 1 eine perspektivische Gesamtdarstellung eines erfindungsgemäßen Analysengerätes,

Fig. 2 - 5 das erfindungsgemäße Verfahren zur Suspension von Partikeln,

Fig. 6 in axonometrischer Darstellung die erfindungsgemäße Pipettenführung gemäß den Figuren 2 bis 5,

Fig. 7 eine weitere Möglichkeit einer erfindungsgemäßen Pipettenführung.

Beispielhaft wird ein Analysengerät zur automatisierten Durchführung von Festphasenimmunoassays vorgestellt, bei dem die feste Phase aus magnetischen Mikropartikeln besteht und die Trennung von fester und flüssiger Phase mit Hilfe von Permanentmagneten erfolgt. Nach der Trennung sind die Mikropartikel an zwei diametral gegenüberliegenden Wandungsbereichen des Reaktions-

gefäßes niedergeschlagen.

In Fig. 1 ist ein Analysengerät 1 dargestellt, welches beispielsweise zur Durchführung von DNA-Detektionen ausgelegt ist. In dem Analysengerät 1 sind enthalten: Einrichtungen zur Durchführung obengenannter DNA-Detektionen, hier z.B. zwei Racks 3,4 mit Reagenzien auf einem Schütteltisch 5, drei Racks 7 mit Einwegreagenzbehältern 8, ein temperierbarer Inkubator 9, eine Wascheinrichtung 11, ein Photometer 12.

Der Proben- und Reagenzientransfer sowie der Reaktionsgefäß-Transfer wird durch eine im x-y Koordinatensystem bewegbare Transporteinrichtung 13 ermöglicht, welche eine Pipettiereinrichtung 14 mit einer Pipettieradel 18 sowie einen Reaktionsgefäßgreifer 15, beide in z-Richtung bewegbar, aufweist.

Zum Reagenzientransfer wird die Pipettieradel 18 zu einem Rack 3, 4 geführt. Dort wird Reagenz abgesaugt. Anschliessend wird die Pipettieradel 18 zu einem Reaktionsgefäß 8 geführt, wo die Reagenzabgabe erfolgt.

Über eine Bedienebene 16 und / oder einen Barcode - Lesegeriffel 17 können Prozessparameter eingegeben werden. Die CPU steuert und koordiniert sämtliche Prozessvorgänge.

Fig. 2 - 5 zeigt das erfindungsgemäße Verfahren zur Suspension magnetischer Mikropartikel.

Fig. 2 zeigt das Reaktionsgefäß 8 mit der Mittellängsachse 22. Die Partikel 19 haften an in bezug auf die Mittellängsache 22 diametral gegenüberliegenden Innenwänden des Reaktionsgefäßes 8.

Fig. 3 zeigt die Pipettieradel 18 in der ersten Position im Abstand e von der Mittellängsachse 22. Hier wird ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit 21 eingespritzt. Der entstehende Wirbel 24 ist schematisch angedeutet.

Fig. 4 zeigt die Pipettieradel 18 in der zweiten Position im Abstand e von der Mittellängsachse 22. Hier wird der Rest des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit 21 eingespritzt. Der entstehende Wirbel 25 ist schematisch angedeutet. Man erkennt die inverse Drehrichtung.

Fig. 5 zeigt schematisch resuspendierte Partikel.

Die Verstellung der Pipettieradel 18 kann in einfacher Weise mittels der Transporteinrichtung 13 und mit einem entsprechenden Steuerprogramm (x-y-Verstellung) durchgeführt werden.

Fig. 6 zeigt die lineare Verschiebung der Pipettieradel 18 an zwei in bezug auf die Mittellängsachse 22 diametral gegenüberliegende Positionen. Der Gesamtverschiebeweg beträgt 2e.

Fig. 7 zeigt die rotierende Verschiebung der Pipettieradel 18 an in bezug auf die Mittellängsachse 22 beliebige Positionen im Abstand e.

## Patentansprüche

1. Analysengerät, das folgende Komponenten enthält:

eine Pipettierzweckvorrichtung mit einer Transporteinrichtung, die dazu dient, eine Pipettier-  
nadel in drei zueinander senkrechten Richtun-  
gen (x,y,z) zu bewegen,

wenigstens ein Reaktionsgefäß mit einer Mittellängsachse, wobei das Reaktionsgefäß die zu suspendierenden Partikel enthält,

wenigstens eine Bearbeitungsstation, in der das Reaktionsgefäß angeordnet werden kann, und an der eine bestimmte Menge eines Reagenzes durch die Pipettier-  
nadel in das Reaktionsgefäß pipettierbar ist,

dadurch gekennzeichnet, dass  
die Transporteinrichtung (13) dazu eingerichtet ist, die Pipettier-  
nadel (18) im Reaktionsgefäß (8) parallel zu und in einem bestimmten Ab-  
stand (e) von der Mittelachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) zu positionieren, sodass die Position der Pipettier-  
nadel (18) im Reagenz-  
glas (8) während der Pipettierung von Flüssig-  
keit (21) unverändert bleibt.

2. Analysengerät gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Pipettier-  
nadel im Ab-  
stand (e) zwischen der Mittellängsachse (22)  
des Reaktionsgefäßes (8) und der Wand des Reaktionsgefäßes (8) positionierbar ist.

3. Verfahren zur Suspension von Partikeln, die sich in einem Reaktionsgefäß befinden, bei dem ein vorbestimmtes Volumen einer Reagenzflüssigkeit mittels einer durch eine Transporteinrichtung bewegbaren Pipettier-  
nadel in das Reaktionsgefäß gegeben wird,  
dadurch gekennzeichnet, dass

die Pipettier-  
nadel (18) durch die Transport-  
einrichtung (13) zu einer ersten Position in einem Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) gebracht wird,

mit der Pipettier-  
nadel (18) an dieser ersten Position ein Teil des vorbestimmten Volumens der Reagenzflüssigkeit (21) in das Reaktions-  
gefäß (8) unter Bildung eines ersten Wirbels (24) eingespritzt wird, wobei die Position der Pipettier-  
nadel (18) im Reagenzglas (8) wäh-  
rend des Einspritzens unverändert bleibt.

die Pipettier-  
nadel (18) durch die Transport-  
einrichtung (13) zu einer zweiten Position in einem Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) gebracht wird,

mit der Pipettier-  
nadel (18) an dieser zweiten Position der restliche Teil des vorbestim-  
mten Volumens der Reagenzflüssigkeit (21) in das Reaktionsgefäß (8) unter Bildung eines

zweiten Wirbels (25) eingespritzt wird, der in bezug auf die Drehrichtung des ersten Wirbels (24) die entgegengesetzte Drehrichtung hat.

- 5      4. Verfahren zur Suspension von Partikeln ge-  
mäss Anspruch 3,  
dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Posi-  
tion im Abstand (e) von der Mittellängsachse (22) des Reaktionsgefäßes (8) in bezug auf die erste Position im Abstand (e) von der Mit-  
tellängsachse (22) diametral gegenüberliegt.
- 10     5. Verfahren zur Suspension von Partikeln ge-  
mäss Anspruch 3 und 4,  
dadurch gekennzeichnet, dass die in bezug auf die Mittellängsachse (22) diametral gegenüber-  
liegenden Wandbereiche des Reaktionsgefäßes (8) in denen die Abgabe der Teilvolumina der Reagenzflüssigkeit (21) erfolgen, diejenigen Bereiche sind, an welchen die zu suspen-  
dierenden Partikel (19) zuvor anhaften
- 15     6. Verfahren zur Suspension von Partikeln ge-  
mäss einem der Ansprüche 3-5, dadurch ge-  
kennzeichnet, dass die Partikel (19) magneti-  
sche Mikropartikel sind.

30

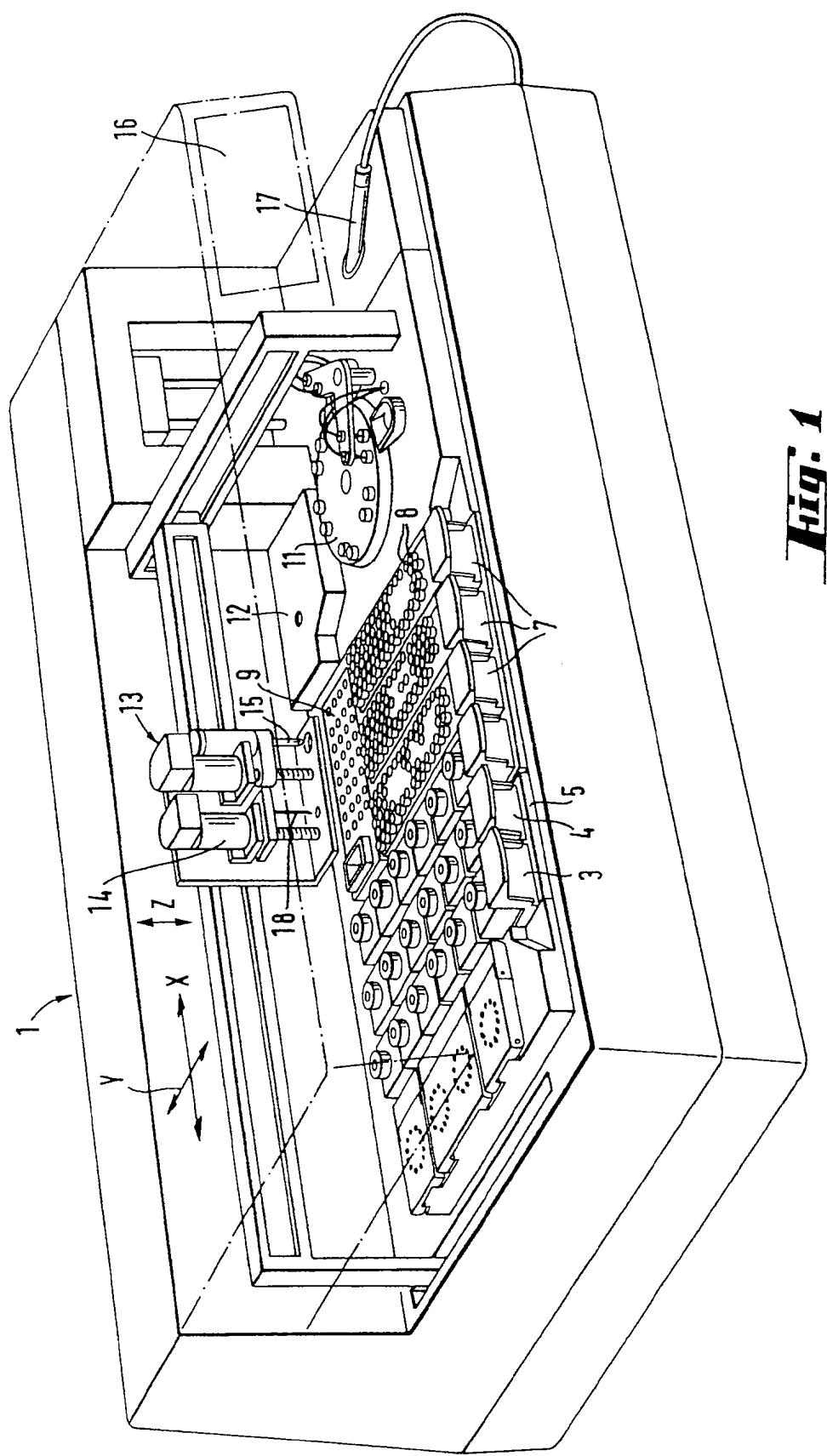
35

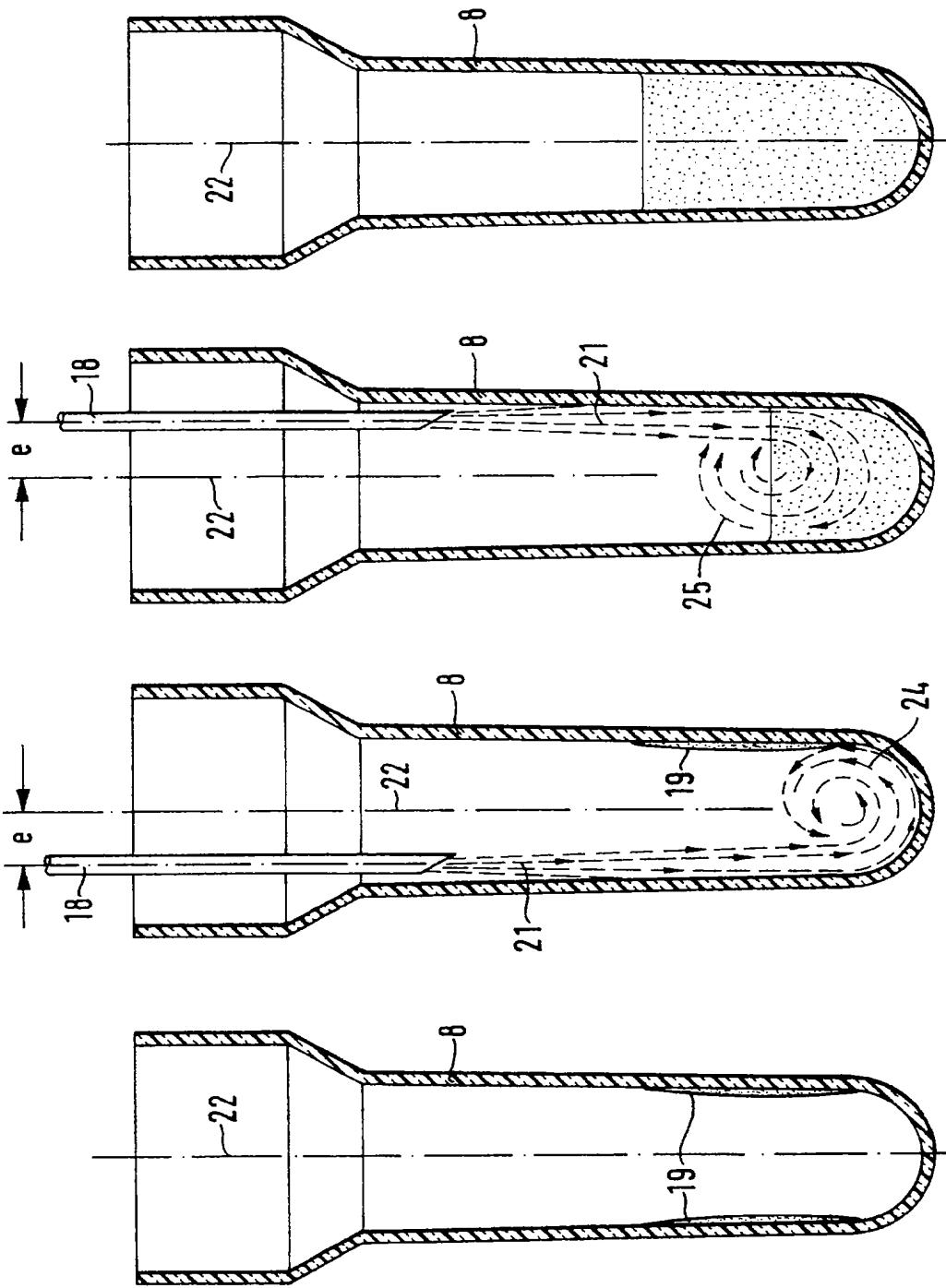
40

45

50

55



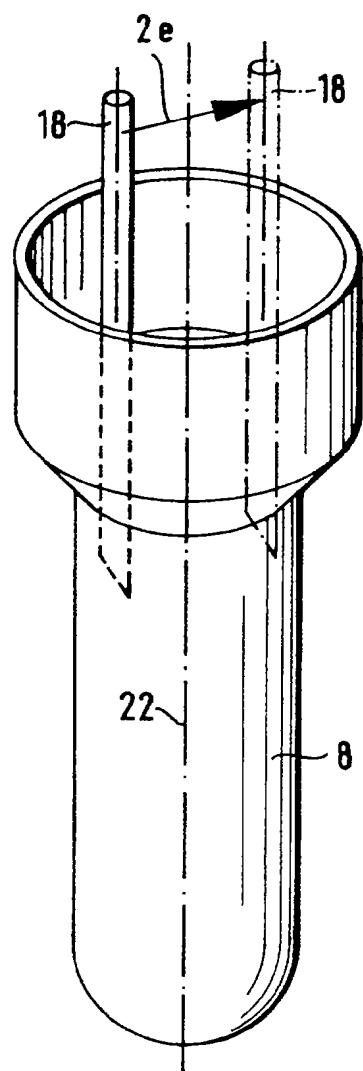


**Fig. 5**

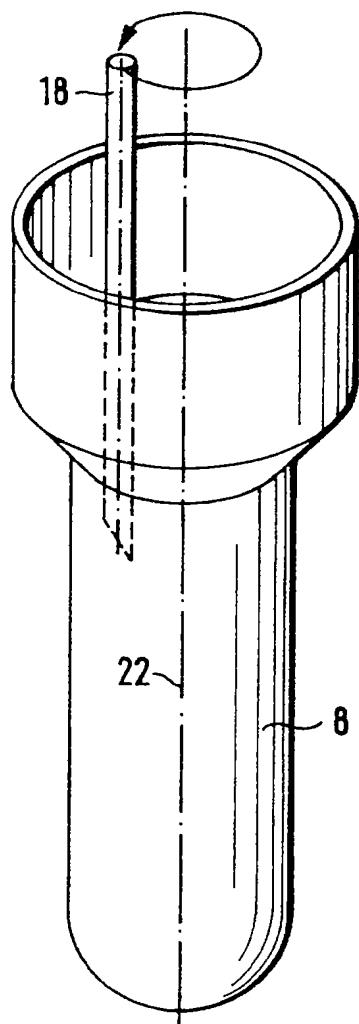
**Fig. 4**

**Fig. 3**

**Fig. 2**



**Fig. 6**



**Fig. 7**



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 94 11 3833

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrift Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
Y	WO-A-91 16675 (APPLIED BIOSYSTEMS INC.) 31. Oktober 1991	1-3	G01N35/10 B01L11/00 G01N33/543
A	* Seite 25, Zeile 2 - Zeile 19; Abbildung 4D *	4-6	
	---		
Y	DE-A-32 42 460 (DR BRUNO LANGE GMBH) 17. Mai 1984	1-3	
	* Seite 19, Zeile 19 - Seite 20, Zeile 5; Abbildung 2A *		
A	EP-A-0 131 259 (BEHRINGWERKE AG) 16. Januar 1985	---	
A	US-A-4 803 050 (D.R. MACK) 7. Februar 1989	-----	
RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)			
G01N B01L			
<p>Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt</p>			
Rechercheort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
DEN HAAG	14. Dezember 1994	Hodson, M	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument ..... & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	